



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | GATA-6遺伝子・上流制御領域と同領域にコードされる新規遺伝子GUEの解析                                                                                                          |
| Author(s)    | 眞部, 史朗                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 2001, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/42517">https://hdl.handle.net/11094/42517</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|               |                                                                              |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | 眞 部 史 朗                                                                      |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (理 学)                                                                    |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 5 9 9 2 号                                                                |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 13 年 3 月 23 日                                                            |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>理学研究科生物科学専攻                                              |
| 学 位 論 文 名     | GATA-6 遺伝子・上流制御領域と同領域にコードされる新規遺伝子 GUE の解析                                    |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 二 井 将 光<br><br>(副査)<br>教 授 田 嶋 正 二    教 授 杉 野 明 雄    助 教 授 和 田 洋 |

### 論 文 内 容 の 要 旨

GATA-6 は、胃酸分泌酵素の遺伝子上流に結合する因子として同定されたタンパク質である。遺伝子欠損マウス等の解析から GATA-6 は、胚発生の初期段階から発現し、内胚葉および心臓の発生に関与する重要な因子として知られている。GATA-6 遺伝子の発現制御機構を知ることは、心臓、消化器官系も含めた組織発生の機構を理解することにも繋がると思われる。本研究では、GATA-6 遺伝子上流制御領域をトランスジェニックマウスの手法を用いて解析した。

5' 上流 4.9kbp を含む GATA-6 遺伝子の、エクソン II に位置する翻訳開始点の下流にインフレームで大腸菌の *LacZ* 遺伝子を繋いだ。この DNA 断片をマウスに導入し、*LacZ* 遺伝子の発現を観察することで、GATA-6 遺伝子上流領域の解析を行った。形質導入したマウスの 8.5 日胚の心臓管で、*LacZ* の発現が認められた。この心臓部位での発現は、以降の発生段階での胎児においても確認され、成体の心臓においても保持されていた。本研究でトランスジェニックマウスの作製に用いた領域は、GATA-6 の心臓での発現を再現することができた。さらに 10.5 から 11.5 日胚での *LacZ* の発現を、切片を作製して詳細に検討したところ、心臓の領域以外にも、胃や肺、気管支、肝臓の洞状毛細血管にも *LacZ* の発現が観察された。しかしこれらは組織での発現は、心臓における発現に比べるときわめて弱いものであった。whole mount *in situ* hybridization の結果では、同時期の胎児の心臓と消化器官系で強い発現が確認される。消化器官での発現には、本研究でトランスジェニックマウスの作製に用いた領域以外に、さらに別の領域が関与することが強く示唆された。

次に、心臓での発現に関与するエレメントを同定することを目的に、上流領域の一部を欠いたものを用いてトランスジェニックマウスを作製し、*LacZ* の発現を観察した。この結果、上流 3.7kb から 4.9kb の約 1.2kb を削ったもの、またイントロン I の領域を除いたもので、心臓での発現が観察されなくなった。これらの結果から、上流 3.7kb から 4.9kb の約 1.2kb とイントロン I の領域に、GATA-6 の心臓での発現に関与する重要なエレメントが含まれることが示唆された。イントロン I の領域には、GATA タンパク質と、心臓に特異的な転写因子である Nkx2.5 の認識配列がマウスとヒトにおいて保存されており、これらの配列が、GATA-6 の心臓での発現に関与することが考えられる。

また、マウス GATA-6 遺伝子上流領域の塩基配列と一致する配列を、EST データベースに見出した。この配列をもとに、cDNA ライブラリーよりクローンを単離した。単離したクローンの配列をマウスのゲノム配列と比較し、GATA-6 遺伝子上流約 1 kb の位置から、GATA-6 とは逆方向に転写される新規遺伝子、GUE (GATA-6

upstream expressed gene) を同定した。マウスの各組織でノザンプロットを行い、主に心臓と肝臓での発現を確認した。この発現パターンは、GATA-6 の発現と類似している。本研究で同定した GUE は、1 kb の距離において GATA-6 と逆方向に転写されている。このように短い領域を介して両方向に転写される遺伝子の産物は機能的に関連していることが多い。GUE の発現様式が GATA-6 と似ていることも考えあわせると、GUE は、GATA-6 による転写制御機構に関与する因子である可能性が高い。

#### 論文審査の結果の要旨

GATA-6 は、胚発生の初期段階から発現し、内胚葉および心臓の発生に重要な役割を果たす転写因子である。眞部君は、GATA-6 の遺伝子発現制御を知ることは、心臓を含めた組織発生の制御機構の理解にも繋がる、という視点に基づいて研究を進めた。トランスジェニックマウスの手法を用いて、初期発生段階の GATA-6 遺伝子の制御領域を解析し、その結果、GATA-6 遺伝子のイントロン I、および 5' 上流 4.9kbp の領域が、GATA-6 の心臓での発現を再現することを示した。また 5' 上流 3.9kb から 4.9kbp の間、約 1 kb の領域とイントロン I に、この発現に必須な領域が含まれることを明らかにした。さらに、GATA-6 のエクソン I の約 1 kb 上流の位置から、GATA-6 遺伝子とは逆向きに転写される新規の遺伝子、GUE (GATA-6 upstream expressed gene) を発見した。GUE の発現パターンは GATA-6 の発現と類似しており、GATA-6 による転写制御機構に関与している可能性が高いと考える。これらの成果は、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。